

## 論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 ○第 2453 号 氏名 高山 浩昭

論文審査担当者 主査 井上 啓

副査 原田 憲一

村松 正道



### 学位請求論文

題 名 Metformin suppresses expression of the selenoprotein P gene via an AMP-activated kinase (AMPK)/FoxO3a pathway in H4IIEC3 hepatocytes.  
掲載雑誌名 The Journal of biological chemistry 第 289 巻第 1 号 335 頁～345 頁  
平成 26 年 1 月掲載

【背景と目的】2 型糖尿病患者の肝臓で過剰に産生される分泌タンパク質セレノプロテイン P（以下 SeP）が肝臓や骨格筋に作用しインスリン抵抗性を引き起こすこと、さらに、肝での SeP の過剰産生を抑制することが 2 型糖尿病の新たな治療に繋がることが報告されている。本研究では、AMP-activated kinase (AMPK) 活性作用を有する抗糖尿病薬メトフォルミンが肝細胞での SeP 遺伝子（以下 *SEPP1*）発現に及ぼす影響を検討した。

【結果】メトフォルミン処置は H4 肝細胞の *Sepp1* mRNA 発現および *SEPP1* プロモーター活性を濃度および時間依存性に抑制した。この抑制は AMPK 阻害剤の同時処置により解除された。またメトフォルミンと同様に、AMPK 活性化剤処置は *SEPP1* プロモーター活性を減弱させた。これらの結果はメトフォルミンによる *SEPP1* プロモーター活性の抑制は AMPK 活性化を介することを示唆した。次に *SEPP1* プロモーターレポーターベクターを段階的に短くした Deletion Mutant を用いた検討によりメトフォルミン応答領域を同定し、この応答領域に種間で保存された FoxO ファミリー予想結合領域を見出した。ChIP 実験では、メトフォルミンは *SEPP1* プロモーターにおけるメトフォルミン応答領域と FoxO3a の結合を減少させたが、FoxO1 との結合はむしろ増加させた。同様に、メトフォルミンによる *SEPP1* 転写活性抑制は、*Foxo1* ではなく、*Foxo3a* の特異的ノックダウンでのみキャンセルされた。免疫沈降実験では、メトフォルミンは FoxO3a リン酸化を亢進させたが、FoxO1 リン酸化には影響を及ぼさなかった。核内分画タンパクに対する Western blot では、メトフォルミン処置は FoxO3a のタンパク量を減少させた。これらの結果はメトフォルミンの *Sepp1* に対する抑制効果が FoxO1 ではなく FoxO3a 依存性であることを示す。

【考察】本研究は、H4 肝細胞においてメトフォルミンが AMPK 活性化を介して FoxO3a を選択的に不活化することで SeP の転写活性を抑制することを示した。肝での AMPK/FoxO3a 経路は新たな 2 型糖尿病の治療標的となる可能性がある。

本論文は、肝臓からの SeP 分泌抑制というメトフォルミンの新規メカニズムを見出した報告であり、学位論文に値すると考えられた。